

5종의 향신료 에탄올 추출물의 항산화 효과

김진¹ · 김성애¹ · 윤원경² · 김은정² · 우미경² · 이미숙^{1*}

¹한남대학교 식품영양학과

²(주)메타만나

Antioxidative Effect of Ethanol Extract for 5 Kinds of Spice

Jin Kim¹, Sung-Ae Kim¹, Won Kyung Yun², Eun Jeong Kim²,
Mee-Kyung Woo² and Mee Sook Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

²Metamanna Co., Daejeon 306-791, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antioxidative effect of ethanol extracts of 5 spices. They were separately extracted in ethanol from dried samples at room temperature, and freeze-dried. *In vitro* testing were conducted by DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical scavenging activity, inhibition of iron-induced linoleate peroxidation and the inhibition of malondialdehyde (MDA) and bovine serum albumin (BSA) conjugation reaction. The ethanol extracts of clove (92.9%) and cinnamon (89.9%) showed the most effective results among five spices in the DPPH radical scavenging capacities. The inhibition rate of ethanol extract of clove on the lipid peroxidation was 55.8%. The ethanol extracts of mustard, wasabi and black pepper were effective in the inhibition of MDA and BSA conjugation reaction showing 73.2%, 72.2% and 61.6%, respectively. These results suggest that five spices tested in this study may enhance the antioxidative capacity, although the results were different according to the assay method and sample.

Key words: antioxidative activity, DPPH radical scavenging effect, lipid peroxidation, MDA-BSA conjugation reaction

서론

최근 소득 증가로 인한 생활수준의 향상으로 인해 식품의 영양학적 측면에서 생체방어, 질병의 방지 및 회복, 노화억제 등의 건강 기능성에 대한 관심이 증가되고 있다. 인간의 질병 및 노화는 대사과정 중 발생하는 산화반응에 기인하며, 이런 과정에서 생성되는 라디칼(radical)들은 체내 지질, 단백질, 그리고 핵산과 같은 물질의 손상을 유발하고, 체내에서는 유해한 라디칼을 제거하기 위해 여러 효소적, 비효소적 반응이 진행된다(1-4). 이런 상황 하에서 식품뿐 아니라 생체에 있어서 산화억제기능을 가지는 화합물이 크게 주목받고 있다.

우리가 일반적으로 섭취하는 식물성 식품에는 유해한 자유 라디칼 제거 효과가 뛰어난 여러 가지 항산화제들이 존재한다. 항산화제는 산화에 의해서 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 식품의 변색을 방지하거나 지연시킬 수 있는 기능을 가진 화합물을 총칭하는(5) 것으로, 속갯, 들나물, 들미나리, 참취, 녹차, 유자 등의 식품 및 각종 생의약재 항산화 효과에 대해서 보고되었다(6-10). 또한 식

품으로부터 분리된 카로티노이드, 플라보노이드류, 폴리페놀류, 클로로필, 클로로필린 등도 항산화작용이 있는 것으로 보고되어 이들 단일성분에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다(11-14). 더욱이 지금까지 널리 사용되어온 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene) 등의 페놀계 합성 항산화제는 간을 비대시키고, 간에서의 microsomal enzyme activity를 증가시킴으로써, 체내 흡수물질의 일부를 독성물 혹은 발암성 물질로 변화시킨다는 연구결과(15-17)가 보고되어 합성 항산화제의 안전성에 대한 논란이 지속되고 있는 실정이다. 이에 따라 천연으로부터 얻은 항산화제를 인공합성물에 대체하려는 시도가 이루어지고 있고(18), 특히 많은 관심을 끌고 있는 것이 향신료 분야이다.

향신료는 식품에 향미를 부여할 목적으로 사용되는 식물의 종실, 뿌리, 줄기, 꽃 등을 말한다. 향신료는 예로부터 동서양을 막론하고 음식에 첨가함으로써 음식의 풍미를 증진시키고 보존성을 증진시키기 위해 사용되어 왔다. 향신료는 향균작용 뿐만 아니라 항산화작용도 나타내는데(19), 특히 향신료의 정유성분(15,20)에서 항산화효과를 볼 수 있으며, 겨자(21), 계피(22), 고추냉이(23), 산초(24) 등의 향신료가

*Corresponding author. E-mail: meesook@hannam.ac.kr
Phone: 82-42-629-7494, Fax: 82-42-629-7490

음식의 맛을 증진시키는 효과 이외에 항산화, 항균, 항돌연변이 등의 생리활성 효과가 있음이 과학적인 실험연구를 통해 밝혀지면서 향신료에 대한 관심이 새로이 커지고 있다. 더욱이 우리 국민의 식생활 향상 및 음식의 세계화로 맛의 고급화에 대한 요구가 급증하고 있으며, 서양에서 도입된 향신료가 널리 사용되고 있는 실정이므로 우리 입맛에 알맞은 향신료에 대한 과학적인 연구가 시급한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 동, 서양에서 널리 사용되고 있는 후추, 겨자, 고추냉이, 계피, 정향을 대상으로 각 향신료의 항산화효과가 어느 정도인지 측정해보고, 각 향신료들 간의 항산화효과를 비교해보고자 하였다. 향신료 에탄올 추출물의 MDA(malondialdehyde)에 대한 단백질의 보호효과와 지질과산화(lipid peroxidation) 저해효과, DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거효과를 측정하여 단백질의 산화 및 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과를 비교함으로써, 항산화 기능을 갖는 식품개발을 위한 기초 자료로 사용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 후추(black pepper, *Piper nigrum*), 겨자(mustard, *Brassica juncea*), 고추냉이(wasabi, *Wasabia japonica*)는 시중에 판매되는 오투기 회사 제품을 사용하였고, 계피(cinnamon, *Cinnamomum zeylanicum*)는 중앙종합식품 제품을 사용하였으며, 정향(clove, *Syzygium aromaticum*)은 수입상가에서 구입하여 실험 전까지 -20°C 에서 냉동 보관하였다.

시료의 제조

시료의 에탄올 추출물은 건조시료 일정량(5 g)에 20배의 80% 에탄올이나 95% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 동안 추출한 후 여과하는 과정을 2회 반복하였다. 이때 얻은 에탄올 추출물은 rotary vacuum evaporator(EYELA, Rotary vacuum evaporator N-N series)로 농축한 후 동결건조(BioTron, Vacuum freeze dryer)하였다. 동결 건조된 시료 중 80% 에탄올 동결건조 시료는 최소량의 0.1 M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)에 녹여 MDA(malondialdehyde)-BSA(Sigma, Bovine serum albumin) conjugation 반응을 위한 시료로 사용하였다. 95% 에탄올 추출 시료는 DMSO(sigma, dimethyl sulfoxide)에 용해시켜 DPPH 라디칼 소거활성과 지질과산화억제 활성을 위한 시료로 사용하였다.

항산화효과 측정

DPPH 라디칼 소거효과 측정 : Chen 등(25)의 방법에 따라, DMSO 10 μL 를 대조군으로 하고, DMSO에 녹여 농도별

로 희석한 시료 10 μL 에 200 μM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl/ethanol) 190 μL 를 가한 후, 37°C 에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc). 대조군에 대해 시료를 넣었을 때의 흡광도의 감소 정도를 측정하여 저해율(inhibition rate, %)을 구하였다. 대조군의 흡광도를 100%로 하여 향신료 에탄올 추출물을 첨가하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제효과를 보이는 dry weight를 산출하였다.

지질과산화 억제효과 측정 : Saija 등(26)과 Haase와 Dunkley(27)의 방법에 따라 Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성을 TBA(thiobarbituric acid, Sigma)로 발색시켜 측정하였다. 10 mL의 10 mM linoleic acid solution에 시료 20 μL 를 가하고 37°C shaking incubator에서 1시간 동안 교반시킨 후, 0.05 M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 20 μL 첨가한 다음 다시 37°C 에서 2시간 동안 교반시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleic acid solution 800 μL 를 4°C 에서 10분 동안 tempering 시키고, 400 μL 의 TBA reagent를 첨가한 다음 잘 혼합한 후 boiling water bath에서 15분 동안 처리한 후 흐르는 물에 냉각시켰다. 냉각된 용액에 n-butanol 1,120 μL 를 가하고 잘 섞은 다음 $250 \times \text{g}$ 로 20분 동안 원심 분리하여(Hanil, Union 5KR) butanol phase를 취한 후 535 nm에서 흡광도를 측정(Molecular Devices, SpectraMAX 340 pc)하였다. Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화물을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 채소류 에탄올 추출물을 첨가하여 그 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 농도를 IC₅₀으로 나타내었고, 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다.

MDA-BSA conjugation 반응 억제효과 측정 : Park(28)의 방법에 따라 bovine serum albumin(BSA, mg/mL), malondialdehyde(MDA, 20 mM) 100 μL , 향신료 에탄올 추출물, 0.1 M PBS를 혼합하여 37°C 에서 24시간 반응시켰다. 이 때 BSA 단백질정량은 Bradford법(29)을 사용하였고, MDA는 Gomez-Sanchez 등(30)의 방법에 따라 제조하였다. 반응시킨 시료 500 μL 를 Centricon(Amicon, Centricon YM-10)에 넣고, $1,400 \times \text{g}$ 에서 2시간 동안 원심 분리하여(Beckman, Model J2-21 centrifuge), MDA와 BSA의 결합물을 분리한 후, 증류수 700 μL 를 넣고 $1,400 \times \text{g}$ 에서 2시간 동안 원심 분리하여 여분의 염 등을 세척하였다. 세척은 동일한 방법으로 3회 실시하였다. 세척한 시료를 분리하여 12% SDS-PAGE(polyacryl-amide gel electrophoresis)를 사용하여 120 V, 3시간 동안 전기영동을 실시한 후, gel을 Coomassie로 염색하여 MDA-BSA 결합물의 band를 densitometer(Vilber Lourmat, BIO-1D Image Analysis)로 정량함으로써 지질과산화물과 단백질의 결합 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다. 이들의 결합을 억제하는 시료의 농도(IC₅₀)과 dry weight를 산출하였다.

결과 및 고찰

항산화효과

DPPH radical 소거 활성 : DPPH 라디칼은 자신이 가지고 있는 odd electron으로 인해 517 nm 부근에서 흡광도가 극대화되며 DPPH 분자내의 질소가 불안정한 상태에 있기 때문에 쉽게 전자를 받아들이는 성질을 가지고 있다(31). 따라서 cysteine, glutathione과 같은 함황아미노산과 토코페롤, 비타민 C, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류 등의 항산화물질과 반응하여 전자를 받게 되면 hydrazine 형태의 안정한 분자로 환원되어 짙은 자색이 탈색되므로 탈색 정도가 항산화 물질의 전자 공여능으로 알려져 있다. 항산화 효과는 이런 전자 공여능과 밀접한 관계가 있고 양과 같은 일부 향신료 추출물들의 항산화물질이 free radical acceptor 나 연쇄반응 억제와 같은 항산화 작용을 하는 것으로 보고되었다(32).

향신료 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하여 항산화효과를 알아본 결과는 Table 1과 같다. 모든 결과는 각 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고 50%를 억제시키는 IC₅₀값(μg/assay)과 dry weight(mg)를 산출하였다. 각 향신료 에탄올 추출물의 저해율(%)은 정향(92.9%), 계피(89.9%), 겨자(81.1%), 후추(77.6%), 고추냉이(66.0%)로, 모든 시료의 저해율이 50%를 상회하여 DPPH 라디칼 소거 활성이 우수한 것으로 나타났다.

각 향신료 에탄올 추출물의 농도에 따른 저해율은 후추, 겨자, 고추냉이는 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하였으나, 계피와 정향은 높은 농도에서 오히려 DPPH 라디칼 소거 활성이 감소하였다. 이들 향신료들의 IC₅₀ 값(μg/assay)을 비교해보면, 계피와 정향이 각각 4.0 μg/assay, 5.9 μg/assay로 강한 소거 활성을 보였고, 후추, 겨자, 고추냉이는 147.3 μg/assay, 113.1 μg/assay, 231.4 μg/assay로 위의 두 향신료에 비해 낮으나 비교적 높은 소거 활성을 보였다.

수분 함량과 추출 수득율의 차이에 따른 50% 억제 효과를 보이는 dry weight(mg)를 살펴보면(Table 2), 정향과 계피가 각각 0.01 mg으로 가장 효과가 좋은 것으로 나타났고, 후추, 겨자, 고추냉이가 0.6 mg, 0.2 mg, 0.2 mg으로 DPPH 라디칼

Table 2. Dry weights of five spices corresponding to IC₅₀ values of DPPH radical scavenging effect

	IC ₅₀ (μg/assay)	Dry weight (mg)
Black pepper	147.3	0.6
Mustard	117.6	0.2
Wasabi	364.8	0.2
Cinnamon	4.0	0.01
Clove	5.9	0.01

소거 활성을 보였다. 용매추출 조건에 따른 계피의 항산화 활성을 비교한 유사한 연구에서 본 실험에서와 동일 조건으로 추출한 시료의 DPPH 소거 활성이 가장 좋았고, 이는 추출 시료 중에 함유된 페놀계 화합물의 함량이 높았던 것으로 보고하여(22) 계피의 항산화 활성은 페놀계 화합물에 의한 것임을 시사하였다.

지질과산화 억제 활성 : Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화 억제 활성에 대한 각 향신료 에탄올 추출물의 농도별 저해율(inhibition rate, %)은 Table 3과 같다. 정향은 55.8%로 강한 linoleic acid의 과산화화 억제 활성을 보였고, 겨자(46.1%), 고추냉이(40.9%), 계피(33.8%), 후추(20.4%) 순이었다. 농도에 따른 향신료 에탄올 추출물의 저해율을 보면, 고추냉이, 겨자, 정향은 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화 저해율이 상승하였으나, 후추와 계피는 1000 μg/assay의 고농도에서는 저해율이 다소 감소하는 경향을 보여 최고의 효과를 보인 농도는 300 μg/assay 수준임을 알 수 있었다. 이들 향신료의 IC₅₀값(μg/assay)을 비교해 보면, 정향은 415.06 μg/assay으로 가장 좋은 효과를 가지는 것으로 나타났고, 후추, 겨자, 고추냉이, 계피는 각각 700.9 μg/assay, 745.2 μg/assay, 2892.4 μg/assay, 1946.6 μg/assay으로 비교적 낮은 활성을 보였다. 추출물 수득율 차이에 따른 50% 억제 효과가 있는 dry weight(mg)를 살펴보면(Table 4), 정향(0.4 mg), 겨자(2.4 mg), 고추냉이(5.5 mg), 후추(5.7 mg), 계피(7.6 mg) 순이었다. Hur 등(33)은 고추냉이에서 추출한 플라보노이드 배당체가 지질과산화 억제 효과가 있음을 보고하였고, Han 등(34)의 연구에서 겨자가 지질 과산화를 억제하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 보였다.

MDA-BSA conjugation 반응 억제효과 : 향신료 에탄올 추출물을 첨가하여 MDA-BSA의 교차결합(cross-linking) 형성을 차단하는 정도를 비교한 전기영동 실험 결과는 Fig. 1과

Table 1. Scavenging effects of DPPH radical by ethanol fraction of spices

Conc. (μg/assay)	Inhibition rate (%)				
	Black pepper	Mustard	Wasabi	Cinnamon	Clove
2	1.35 ± 0.22 ^{1)ax2,3)}	1.17 ± 0.28 ^{ax}	0.84 ± 0.20 ^{ax}	33.34 ± 3.29 ^{ay}	27.31 ± 1.58 ^{ay}
6	4.70 ± 0.36 ^{ax}	3.39 ± 0.57 ^{abx}	1.74 ± 0.40 ^{ax}	58.82 ± 3.69 ^{by}	52.51 ± 2.93 ^{by}
20	11.18 ± 0.47 ^{by}	10.36 ± 0.70 ^{by}	6.04 ± 0.75 ^{ax}	76.22 ± 2.10 ^{cz}	74.54 ± 3.26 ^{cz}
60	27.13 ± 0.76 ^{cy}	29.95 ± 1.01 ^{cy}	17.42 ± 0.90 ^{ax}	89.87 ± 0.36 ^{cz}	90.33 ± 2.66 ^{dz}
200	54.98 ± 1.25 ^{dy}	61.10 ± 4.37 ^{dy}	42.20 ± 0.74 ^{bx}	87.51 ± 0.32 ^{cz}	92.86 ± 0.18 ^{cz}
500	77.57 ± 3.52 ^{ey}	81.07 ± 2.64 ^{ey}	65.97 ± 2.90 ^{cx}	78.66 ± 0.65 ^{cy}	92.08 ± 0.19 ^{dz}

¹⁾ Values are mean ± SE.

²⁾ Values with different letters within a column (a~e) are significantly different at p < 0.05 by LSD test.

³⁾ Values with different letters within a row (x~z) are significantly different at p < 0.05 by LSD test.

Table 3. Antioxidative effects of ethanol fractions of five spices on lipid peroxidation

Conc. ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Inhibition rate (%)				
	Black pepper	Mustard	Wasabi	Cinnamon	Clove
10	$6.78 \pm 2.85^{1)ax2,3)}$	7.95 ± 3.00^{ax}	7.82 ± 5.73^{ax}	17.40 ± 1.40^{axy}	42.56 ± 3.90^{az}
30	12.68 ± 1.15^{ax}	23.97 ± 4.23^{by}	8.46 ± 0.58^{ax}	29.25 ± 4.50^{by}	44.73 ± 3.66^{abz}
100	31.10 ± 2.52^{cxy}	40.86 ± 3.59^{cy}	29.93 ± 3.80^{bx}	35.04 ± 3.28^{bxy}	47.68 ± 3.37^{aby}
300	20.44 ± 2.14^{bx}	45.28 ± 3.19^{cyz}	40.31 ± 3.87^{by}	37.11 ± 4.21^{by}	50.02 ± 4.13^{abyz}
1000	-	46.09 ± 2.57^{cy}	40.90 ± 4.40^{bxy}	33.84 ± 3.36^{bx}	55.84 ± 3.27^{bz}

¹⁾Values are mean \pm SE.

²⁾Values with different letters within a column (a~c) are significantly different at $p < 0.05$ by LSD test.

³⁾Values with different letters within a row (x~z) are significantly different at $p < 0.05$ by LSD test.

Table 4. Dry weights of five spices corresponding to IC_{50} values of Fe^{2+} -induced linoleate peroxidation

	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)
Black pepper	700.9	5.7
Mustard	745.2	2.4
Wasabi	2892.4	5.5
Cinnamon	1946.6	7.6
Clove	126.2	0.4

같고, 이를 대조군의 저해율(inhibition rate, %)로 표시한 결과는 Table 5와 같다. 모든 결과는 각 농도별 저해율을 구하고 50%를 억제시키는 IC_{50} 값과 dry weight(mg)를 산출하였다. MDA는 지질과산화과정에서 생성되는 알데히드들 중에서 가장 많이 생성되는 물질로 두 개의 친전자성 알데히드기를 가진 분자이다. 이런 MDA는 단백질 내부의 아미노산 잔기들 사이에서 뿐만 아니라 외부 단백질분자의 잔기 사이에서

도 교차결합(cross-linking)을 일으켜 단백질 변형, 세포막 파괴, 조직 손상, 효소들의 기능 저하 등 광범위하게 영향을 미친다(28). 겨자와 고추냉이, 후추 에탄올 추출물을 처리하면 MDA-BSA 교차결합 형성이 차단되었고, 교차결합의 형성 차단정도를 비교한 상대 저해율은 각 향신료 추출물의 처리농도가 증가할수록 저해율이 높아짐을 알 수 있었다.

각 향신료 에탄올 추출물들의 저해율을 살펴보면, 겨자와 고추냉이가 각각 73.2%와 72.2%로 MDA-BSA의 교차결합을 효과적으로 차단하였다. 후추도 61.6%의 저해율을 보였으나, 계피와 정향은 측정할 수 없었다. 이들 향신료 에탄올 추출물의 IC_{50} 값($\mu\text{g}/\text{assay}$)을 비교해 보면(Table 6), 겨자가 22.72 mg/assay 으로 비교적 효과가 좋은 것으로 나타났고, 고추냉이와 후추는 각각 30.45 mg/assay 와 38.20 mg/assay 이었다. 추출물 수득율의 차이에 따른 50% 억제 효과를 보

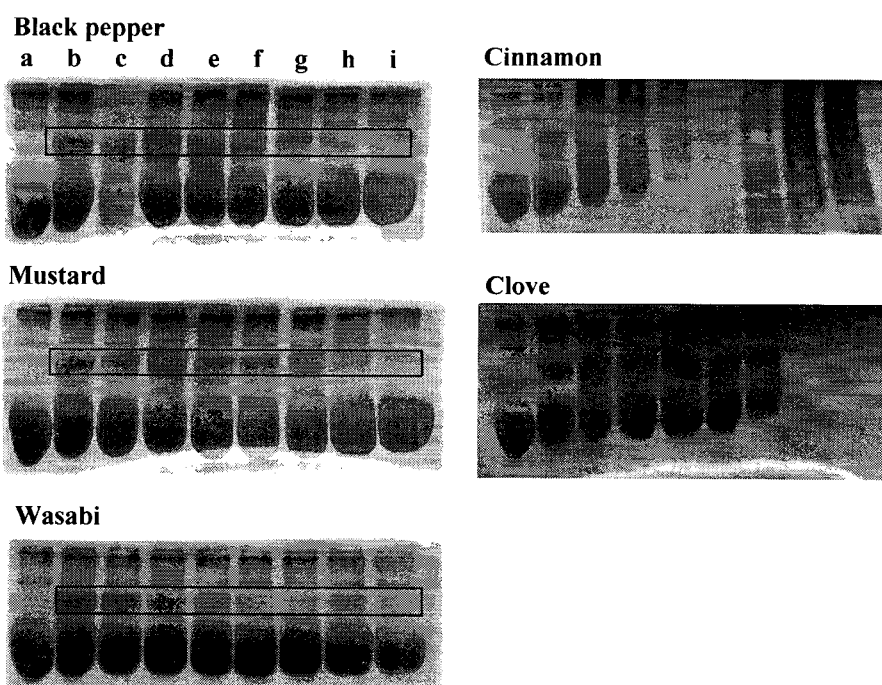


Fig. 1. Inhibitory effects of five spices on conjugated malondialdehyde with bovine serum albumin in 12% SDS-PAGE. a: BSA (100 μL) + PBS (900 μL), b: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + PBS (900 μL), c: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (2.5 mg) + PBS (775 μL), d: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (5 mg) + PBS (750 μL), e: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (10 mg) + PBS (700 μL), f: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (20 mg) + PBS (600 μL), g: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (40 mg) + PBS (200 μL), h: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (80 mg), i: BSA (100 μL) + MDA (100 μL) + sample (100 mg).

Table 5. Inhibitory effect of ethanol fraction of five spices on the conjugated malondialdehyde with bovine serum albumin

Conc. (mg/assay)	Inhibition rate (%)				
	Black pepper	Mustard	Wasabi	Cinnamon	Clove
2.5	2.6±0.4 ^{1)ax2,3)}	7.3±3.4 ^{axy}	11.7±0.9 ^{ay}	-	-
5	8.0±0.3 ^{bx}	20.3±1.5 ^{by}	20.1±3.9 ^{aby}	-	-
10	14.0±1.7 ^{cx}	24.7±0.6 ^{cy}	30.3±4.9 ^{by}	-	-
20	22.6±2.8 ^{dx}	37.4±2.9 ^{dy}	43.5±6.4 ^{cy}	-	-
40	49.2±2.1 ^{ey}	38.7±2.6 ^{ex}	56.4±2.6 ^{dy}	-	-
80	49.4±0.9 ^{ex}	61.5±1.9 ^{fy}	61.4±2.6 ^{dy}	-	-
100	61.6±1.1 ^{fx}	73.2±2.4 ^{gy}	72.2±1.4 ^{cy}	-	-

¹⁾Values are mean ± SE.

²⁾Values with different letters within a column (a~g) are significantly different at p<0.05 by LSD test.

³⁾Values with different letters within a row (x~z) are significantly different at p<0.05 by LSD test.

Table 6. Dry weights of five spices corresponding to IC₅₀ values against MDA-BSA conjugation reaction

	IC ₅₀ (mg/assay)	Dry weight (mg)
Black pepper	38.20	72.3
Mustard	22.72	29.2
Wasabi	30.45	105.4
Cinnamon	-	-
Clove	-	-

이는 dry weight(mg)를 살펴보면, 겨자가 29.2 mg으로 가장 효과가 좋은 것으로 나타났고, 후추와 고추냉이가 각각 72.3 mg과 105.4 mg으로 나타나 IC₅₀값과 다른 경향을 보였는데, 이는 추출 수득율의 차이에 기인한 것으로 보인다. 결과적으로 다섯 가지 향신료 중 겨자가 MDA-BSA 교차결합에 대한 차단율 가장 효과적으로 수행하는 것으로 나타났고, 고농도에서의 차단 효과도 우수한 것으로 보인다.

다섯 가지 향신료의 항산화효과를 탐색하기 위해 DPPH 라디칼 소거 활성, 지질과산화억제 활성, MDA-BSA 교차결합 반응 억제 효과를 측정하고, 각 측정법에 따라 항산화 효과에 차이가 있음을 알 수 있었다. 각 향신료별로 살펴보면, 후추는 DPPH 라디칼 소거능(77.6%)과 MDA에 대한 단백질 보호 효과(61.6%)는 농도 의존적으로 상승하였다. 가수분해되는 과정에서 형성되는 정유성분인 isothiocyanate와 allylisothiocyanate에 의해 각각 매운맛과 강한 항균활성을 나타내는 것으로 보고(21,23)된 겨자 고추냉이의 항산화 활성은 유사한 경향을 보였는데, DPPH 라디칼 소거능은 겨자와 고추냉이가 81.1%와 89.9%, MDA에 대한 단백질 보호 효과는 73.2%, 72.2%로 우수하였으나, 지질과산화억제 활성은 최대 농도에서 46.1%, 40.9%로 비교적 낮게 나타났다. Hur 등(31)은 고추냉이에서 추출한 플라보노이드 배당체가 지질과산화 억제 효과가 있음을 보고하였고, Han 등(32)의 연구에서 겨자가 비슷한 지질과산화 억제 효과를 보여 본 연구결과와 비슷한 경향을 보였다. 계피는 DPPH 라디칼 소거활성이 89.9%로 상당히 높았으나, 단백질 산화억제효과는 측정할 수 없었다. Han 등은 계피추출물이 쥐 간에서의 과산화지질 생성을 억제하였다고 보고하였고(33), 다른 여러 연구에서도 각종 식품이나 oil에 대하여 산화 방지 효과가 있는 것

으로 보고하였다(34-36). 용매추출 조건에 따른 계피의 항산화 활성을 비교한 유사한 연구에서 본 실험에서와 동일 조건으로 추출한 시료의 DPPH 소거활성이 가장 좋았고, 이는 추출 시료중에 함유된 페놀계 화합물의 함량이 높았던 것으로 보고하여(22) 계피의 항산화 활성은 페놀계 화합물에 의한 것임을 시사하였다. 정향의 DPPH 라디칼 소거 활성과 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과는 각각 저해율이 92.9%, 55.8%로 다른 향신료에 비해 우수했으나, MDA-BSA conjugation 반응은 측정할 수 없었는데, 이는 정향 처리에 의해 단백질 변형이 일어난 것으로 보여 정향은 MDA-BSA conjugation 반응을 억제하지는 못하는 것으로 보인다.

요 약

동, 서양에서 널리 사용되고 항균효과가 있는 것으로 알려진 후추, 겨자, 고추냉이, 계피, 정향을 대상으로 DPPH 라디칼 소거활성, linoleic acid를 이용한 지질과산화억제, MDA에 대한 단백질 보호효과를 측정하여 각 향신료의 항산화효과가 어느 정도인지 측정해보고, 각 향신료들 간의 항산화효과를 비교한 결과는 다음과 같다. 각 향신료 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하고, 정향(92.9%)과 계피(89.9%)가 높은 저해활성을 보였다. 각 향신료의 에탄올 추출물의 지질과산화억제 활성은 정향만이 55.8%로 강한 linoleic acid의 과산화화 억제 활성을 보인 것으로 나타났고, 고추냉이, 겨자, 정향은 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화 저해율이 상승하였으나, 후추와 계피는 1000 µg/assay의 고농도에서는 저해율이 다소 감소하는 경향을 보여 최고의 효과를 보인 농도는 300 µg/assay 수준임을 알 수 있었다. MDA에 대한 단백질 보호효과를 검색한 결과, 겨자와 고추냉이가 각각 73.2%와 72.2%로 MDA-BSA의 교차결합을 효과적으로 차단하였고, 후추도 61.6%의 저해율을 보였다. 이상에서 살펴본 바와 같이, 각 측정법에 따라 항산화 효과에 차이가 있었으나 이들 향신료를 상용함으로써 생체 산화와 관련된 질병 및 노화의 예방과 억제효과가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2001년 농림부 농림기술개발연구과제(201052-03-HD110) 연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Letteron P, Labbe G, Degott C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, Larrey D, Pessayre D. 1990. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem Pharmacol* 39: 2027-2034.
- Masuda T, Jitoe A, Isobe J, Nakatani N, Yonemori S. 1993. Anti-oxidative and anti-inflammatory curcumin-related phenolics from rhizomes of *Curcuma domestica*. *Phytochemistry* 32: 1557-1560.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radical, antioxidant and nutrition. *Nutr* 18: 872-879.
- Morrissey PA, O'Brien NM. 1998. Dietary antioxidant in health and disease. *Int Dairy J* 8: 462-472.
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Soc Food Sci Technol* 33: 626-632.
- Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in seven common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1344-1350.
- Kim JH, Kang BH, Jeong JM. 2003. Antioxidant, antimutagenic and chemopreventive activities of a phyto-extract mixture derived from various vegetables, fruits, and oriental herbs. *Food Sci Biotechnol* 12: 631-638.
- Yoo KM, Hwang IK. 2004. In vitro effect of Yuza (citrus junos SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol* 36: 339-344.
- Kim YE, Lee YC, Kim HK, Kim CJ. 1997. Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Korean J Food & Nutri* 10: 141-144.
- Saha K, Lajis NH, Israf DA, Hamzah AS, Khozirah S, Khamis S, Syahida S. 2004. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. *J Ethnopharm* 92: 2263-267.
- Burton GW. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr* 119: 109-115.
- Veloglu YS, Mazza G, Gao L, Oomh BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J Agric Food Chem* 46: 4113-4117.
- Nunez MJ, Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez M, Sineiro J, Dominguez H, Parajo JC. 2001. Natural antioxidants from residual source. *Food Chem* 72: 134-171.
- Yang X, Chen L, Park J, Shen S, Wang Y. 2001. Mechanism of scavenging reactive oxygen species of tea catechins. The 6th International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea. p 111-120.
- Frag RS, Badei AZMA, Baroty GSAE. 1989. Influence of thyme and clove essential oils in cotten seed oil oxidation. *JAOCS* 66: 800-804.
- Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS* 52: 59-63.
- Lrson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969-978.
- Colditz GA, Branch LG, Lipnick RJ, Willet WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. 1985. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32-36.
- Pruth, JS. 1980. Spices and condiments. Academic press, London. p 18.
- Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, El-Baroty GSA. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic and oxidation in aqueous media. *JAOCS* 66: 792-799.
- Seo KI, Park SK, Park JR, Kim HC, Choi JS, Shim KH. 1996. Changes in antimicrobial activity of hydrolyzate from mustard seed (*Brassica juncea*). *J Korean Soc Food Nutr* 25: 129-134.
- Kim NM, Sung HS, Kim WJ. 1993. Effect of solvents and some extraction condition on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J Food Sci Technol* 25: 204-209.
- Seo KL, Kim DY, Yang SI. 1995. Studies on the antimicrobial effect of wasabi extracts. *Korean J Nutrition* 28: 1073-1077.
- Lee MS, Chung MS. 2000. Analysis of volatile flavor components from *Zanthoxylum schinifolium* and sensory evaluation as natural spice. *Korean J Soc Food Sci* 16: 216-220.
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K, Nokihara K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *J Agri Food Chem* 46: 49-53.
- Saija A, Scalese M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F. 1995. Flavonoids as antioxidant agents. Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology & Medicine* 19: 481-486.
- Haase G, Dunkley WL. 1969. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation. I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Research* 10: 555-560.
- Park YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomodics by aldehydes. *PhD in Medicine, thesis*. Seoul National University.
- Bradford M. 1970. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal biochem* 72: 240-254.
- Gomez-Sanchez A, Hermonsin I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28: 4077-4080.
- Hur JM, Lee JH, Choi JW, Hwang KO, Jung SK, Park JK, Park KY, Park JC. 1997. Inhibitory effect of lipid peroxidation by flavonoid derived from Wasabi. Korean J Soc Food Sci, Spring symposium.
- Han YB, Kim MR, Han BH, Han YN. 1987. Studies on antioxidant component of mustard leaf and seed. *Nat Pro Sci* 18: 41-49.
- Han BY, Han YN, Park MH. 1985. Chemical and biochemical studies on antioxidant components of ginseng. In *advances in Chinese Medicinal Materials Research*. World Scientific Publ. Co., Shingapore. Vol 1, p 485.
- Friedman M, Kozukue N, Harden LA. 2001. Cinnamonaldehyde content in foods determined by gas chromatography-mass spectrometry. *J Agri Food Chem* 48: 5702-5709.
- Murcia MA, Egea I, Romojaro F, Parras P, Jimenez AM, Martinez-Tome M. 2004. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *Agric Food Chem* 52: 1872-1881.
- Prasad NS, Raghavendra R, Lokesh BR, Naidu KA. 2004. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 70: 521-528.

(2004년 7월 27일 접수; 2004년 9월 30일 채택)